Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Berlin
Leiter: Professor Dr. Zeiss

Ueber das Vorkommen der sogenannten Enterokokken in der Mundhöhle und ihre Beziehungen zu anderen Streptokokkenformen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

an der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Fritz Wiechert

Tag der Promotion: 20. Dez. 1934

100

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät
der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. Gocht.
Referent: Privatdozent Dr. Ehrismann
Korreferent: Prof. Dr. Zeiss

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

I.

Die Frage, ob Enterokokken in der Mundhöhle vorkommen oder nicht, ist in den letzten Jahren in der einschlägigen Literatur noch nicht eindeutig beantwortet worden. Bei der Bedeutung, die diese Streptokokkenform für die Klinik der menschlichen Erkrankungen haben kann, ist ihre Erkennung und Abgrenzung von den in der Mundhöhle vorkommenden saprophytischen Formen dringend erwünscht.

II.

Für eine scharfe Trennung der Enterokokken von den anderen Streptokokkenarten tritt K. Meyer[1]) ein und schreibt dem Glykosid Aeskulin eine ausschlaggebende Rolle für ihre Differenzierung zu. Die Eigenschaft der Aeskulinspaltung soll bei den anderen Streptokokkenformen nur ganz selten beobachtet worden sein[2]). Für die Pathologie menschlicher Erkrankungen sollen die Enterokokken vor allem bei Infektionen des Darmtractus, der Harn- und Gallenwege, Appendicitis in Frage kommen. Ja, K. Meyer hat sogar eine elektive Beziehung zur Gallenblase experimentell nachgewiesen, was Gundel nicht feststellen konnte.

Went[3]) spricht ihnen dagegen eine ätiologische Bedeutung in der Darmpathologie und für die Infektion der Harnwege ab. Auch die in der Mundhöhle vorkommenden Enterokokken sollen nach ihm nur harmlose Saprophyten sein.

Spanier[4]) hält gleichfalls die Aeskulinspaltung für ein charakteristisches Merkmal der Enterokokken neben Thermoresistenz, Mannitvergärung und homogenem Wachstum in Bouillon. Eine gleichhohe Aktivität soll gegenüber den Glykosiden Salizin, Arbutin und Amygdalin bestehen. Sämtliche von ihm untersuchten Enterokokkenstämme spalteten diese unter Säurebildung. Viridansstreptokokken dagegen sollen nach ihm nur Salizin anzugreifen vermögen. Die Diagnose der Enterokokken soll noch bedeutend gesichert werden durch das Reduktionsvermögen von Lackmus, das eine konstante Eigenschaft der Enterokokken sein, den Streptokokken ausnahmslos fehlen soll.

Auch Lehmann[5]) hält die Enterokokken für eine besondere Art. Ihr Verhalten gegenüber dem Aeskulin hält er zur Differenzierung für un-

geeignet, da auch Milchsäurestreptokokken Aeskulin vergären können und versucht, mit Hilfe kultureller und biologischer Eigenschaften eine Differenzierung zu ermöglichen. Er weist auf das verschiedenartige Verhalten auf Blutagar hin, auch Lackmusmilch soll von den Enterokokken nicht in so typischer Weise wie von den Milchsäurestreptokokken verändert werden. Außer dem Bakterizidieversuch spielt noch das unterschiedliche Verhalten in Gallebouillon eine Rolle. Hier soll üppiges Wachstum der Enterokokken eintreten unter Bildung eines voluminösen Bodensatzes, Milchsäurestreptokokken dagegen sollen nur sehr spärlich wachsen.

Gundel genügt auch das verschiedene Verhalten zweier Bakterien einem Zucker gegenüber nicht für eine Trennung, ja er kommt sogar zu dem Schluß, daß die Enterokokken mit den Milchsäurestreptokokken identisch sind und erklärt die geringen Unterschiede im kulturellen und biologischen Verhalten durch Standortsvarianten. Nur soweit die Enterokokken eine ätiologische Bedeutung bei Erkrankungen der Gallenwege und des uropoëtischen Systems haben erscheint es ihm zweckmäßig, sie als eine für den Menschen pathogene Variante der Milchsäurestreptokokken abzutrennen[6]). Im Munde hält er sie für normale Bewohner, Saprophyten, die nur selten in pathogene Form übergehen sollen. Unter 135 Enterokokkenstämmen fand er nur 14 pathogene. Keiner von diesen stammte aus der Mundhöhle. Gundel teilt die Enterokokken in zwei Typen auf. Typ A ist aus der Mundhöhle durch Verschlucken in den Magen-Darmkanal gelangt, Typ B findet sich meist in den unteren Darmabschnitten und unterscheidet sich in der Hauptsache von Typ A durch sein üppigeres Wachstum in den Nährboden, durch seine Thermoresistenz (½ Stunde 60°) und durch seine Fähigkeit, mit wenigen Ausnahmen Aeskulin zu vergären, was Typ A meist nicht tut. Beide Typen sollen meist apathogen sein an der weißen Maus. Während Typ B meist weder Mannit noch Raffinose vergärt, soll Typ A dies Mannit gegenüber selten, Raffinose gegenüber häufiger tun. Obgleich er zugibt, daß Typ B eine relativ fest umrissene Form darstellt, hält er alle Stretpokokkenformen mit Ausnahme des typischen Streptococcus hämolyticus und Streptococcus lanceloatus für Standortsmodifikationen, die einer Stammwurzel entstammen.

Man hat auch versucht, Chinaalkaloide zur Identifizierung der Enterokokken heranzuziehen. K. Meyer und Gundel beobachteten nur optochin unempfindliche Enterokokken, und auch Lehmann sah in einer Verdünnung von 1 : 1000 nicht die geringste Hemmung des Wachstums[7]). Dagegen liegt nach Rosenberg die Hemmungsgrenze bei Optochin in der Verdünnung 1 : 10 000 [8]).

III.

(Methodik)

Zur Gewinnung von Reinkulturen von Streptokokken wurden ausschließlich Blutagarplatten benutzt.

Die Herstellung des Agars erfolgte nach Angabe von Kahlfeld und Wahlich unter Benutzung von Peptonum siccum, kochsalzfrei, der Firma J. D. Riedel & E. de Haën A.-G. (Berlin) [9]).

Nach Dold und Jochimsen[10]) ist die Hämolysereaktion in hohem Maße abhängig von der Blutart, der Vorbehandlung des Blutes und der Blutkonzentration neben der Zusammensetzung des Agars. Sie empfehlen den Gebrauch von nichtgewaschenem, defibriniertem Blut (Schüttelblut), da hier die Hämolyse stärker sein soll als bei Verwendung von defibriniertem und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschenem Blut. Bei nachstehenden Versuchen wurde Pferdeblut, das von Dold und Jochimsen als für die Hämolyse sehr günstig bezeichnet wird, verwendet, im Verhältnis 1 : 10 zum Agar. Die Höhe der Blutagarschicht, die auch von großer Bedeutung ist für den Eintritt und den Grad der Hämolyse betrug 3—6 mm.

Zur Feststellung, ob verschiedene Zuckerarten unter dem Einfluß der Mundstreptokokken gespalten werden unter Bildung von Gas und Säure oder Säure allein, oder ob sie überhaupt nicht angegriffen werden, wurden die Keime in Nährmedien nach Barsiekow gebracht[11]). Als Zucker kamen Dextrose, Lävulose, Maltose, Saccharose, Laktose, Raffinose, Mannit und Sorbit zur Verwendung.

Zum Nachweis der Gasbildung aus Dextrose wurden Gärröhrchen in Reagenzröhrchen benutzt.

Zum Nachweis der Aeskulinspaltung wurde Aeskulinbouillon nach Meyer benutzt[12]). In dem anfangs von Harrison und Vanderleck[13]) angegebenen Nährboden, der außer Aeskulin noch ein Eisenoxydsalz, das mit dem bei eingetretener Aeskulinspaltung freigewordenen Aeskuletin eine tiefschwarze Verbindung eingehen soll, enthält, trat zwar Wachstum der Keime ein, aber Schwärzung zeigte sich erst nach Zugabe eines Tropfen Ferrizitrats zu der 24 Stunden bei 37° C. bebrüteten Kultur. Dieselbe Beobachtung mit diesem Nährboden machte auch K. Meyer[14]).

Die verwendete Gallebouillon bestand aus ⅓ steriler Rindergalle und ⅔ Peptonbouillon, die folgende Zusammensetzung hatte:

In 1 Liter im Wasserbad auf 80° C. erhitzten Aqua destillata wurden aufgelöst:

40 g Peptone sèche de Chapoteaut
5 g Kochsalz
2 g reine Glukose.

Zur Prüfung, ob in Gallebouillon nur Wachstumshemmung und keine Abtötung erfolgt war, wurden alle Stämme nach 24 stündiger Bebrütung in Gallebouillon wieder in Peptonbouillon geimpft. Hier trat bei allen nach 24—48 stündiger Bebrütung bei 37° C. wieder starkes Wachstum ein.

Zum Nachweis der Inulinvergärung wurde der Hißsche Nährboden benutzt[15]).

Für die Optochinempfindlichkeitsprobe wurde zu fallenden Konzentrationen Optochin (1 : 5000, 1 : 50 000, 1 : 500 000, 1 : 1 000 000)

Tabelle I

Aeskulin spaltende Stämme

I	pathogen + galleunempfindlich 12, 18, 34, 53	Enterokokken
II	nicht pathogen + galleunempfindlich 2, 3, 4, 11, 14, 27, 46, 51, 52	Enterokokken
III	nicht pathogen + galleempfindlich 32, 36	Milchsäurestreptokokken?

Tabelle II

Reduktionsvermögen der Aeskulin spaltenden Stämme

I	pathogen + galleunempfindlich + lackmusreduzierend + janusgrünreduzierend	12, 18, (34), [(53)]	Enterokokken
II	nicht pathogen + galleunempfindlich + lackmusreduzierend	(2), 11, 14, (27), (46), 3, (51)	Enterokokken
III	nicht pathogen + galleunempfindlich + nicht lackmusreduzierend	4, 52	?
IV	nicht pathogen + galleempfindlich + lackmusreduzierend	(32), (36)	Milchsäure-streptokokken

Zeichenerklärung: — = reduziert Lackmus unvollständig; [ ] = reduziert kein Janusgrün; ( ) = siehe Tabelle III.

Tabelle III

Reduktion und Koagulation von Lackmusmilch und Reduktion von Janusgrün

vollständig reduziert in 24 Std.	unvollständig reduziert	gar nicht reduziert
(2), (6+). 7, (9), 11, 12+, 13, 14, (17), 18+, 23, 24+, (25,) (27,) (28,) (29,) (30,) (32,) (34+,) (35), (36,) (37,) (42+,) (43,) (46,) (47,) (49,) (53,) 56+, (57)	(3), (5,) 10, (16+,) (21+,) (39,) (51,)	1, 4, 8, 15, 19, 20+, 22+, 26, 31, 33, 38, 40, 41, 44+, 45, 48, 50, 52, 54, 55,

Zeichenerklärung: ( ) = in länger als 24 Stunden reduziert; nicht unterstrichen = vollständig in 24 Stunden koaguliert; 1× unterstrichen = unvollständig koaguliert; 2× unterstrichen = vollständig koaguliert, aber in mehr als 24 Stunden; + = reduziert Janusgrün.

Tabelle IV

Optochinempfindlichkeit der Aeskulin spaltenden Stämme in der Konzentration

Stamm	1 : 5000	1 : 50000	1 : 500000	1 : 1000000
2	(+)	+	+	+
3	(+)	+	+	+
[4]	(+)	+	+	+
11	(+)	+	+	+
12	—	+	+	+
14	—	+	+	+
18	(+)	+	+	+
27	(+)	+	+	+
[32]	—	—	+	+
[36]	(+)	+	+	+
34	(+)	+	+	+
46	(+)	+	+	+
51	(+)	+	+	+
[52]	—	—	+	+
53	(+)	+	+	+

Zeichenerklärung: [ ] = keine Enterokokken; — = kein Wachstum; (+) = Wachstumshemmung (zartes Wachstum); + = starkes Wachstum.

in gleichen Volumina Serumbouillon je ein Tropfen der Kulturen mit der sterilen Pipette hinzugegeben und nach 24 stündigem Aufenthalt bei 37° C. das Wachstum überprüft [16]).

Zum Nachweis, daß nur Wachstumshemmung bei der Mehrzahl der Streptokokkenstämme in der Konzentration 1 : 5000 erfolgt war, wurde entsprechend oben verfahren.

Die Lackmusmilch enthielt nach Heim [17]) 7% Lackmustinktur. Statt Vollmilch kam aber Magermilch zur Verwendung.

Methylenblaumilch und Janusgrün und Ammoniummolybdat in Traubenzuckerbuillon wurde nach Angabe von Klimmer und Haupt hergestellt [18]).

Die Pathogenitätsprüfung erfolgte an der weißen Maus und zwar sofort nach der Beimpfung ohne weitere Passagen. Von den gestorbenen Mäusen wurden gefärbte Ausstrichpräparate aus Milz und Herzblut angefertigt; jedesmal konnten Streptokokken bzw. Diplokokken nachgewiesen werden. Aus dem Herzblut gelang es jeden Stamm wieder zu züchten.

Die Prüfung der Thermoresistenz erfolgte durch ½ stündiges Erhitzen der 24 Stunden alten Kulturen in Peptonbouillon im Wasserbad bei 60° C. Danach wurde das Material auf Blutagarplatten gebracht.

IV.

Unter den von mir untersuchten 57 Stämmen befanden sich 15 Aeskulin spaltende (siehe Tabelle 1). 13 von diesen Stämmen wuchsen in Gallebouillon unter Bildung eines sehr starken, bodenständigen, voluminösen Bodensatzes nach 24 stündiger Bebrütung bei 37° C. Die beiden restlichen Aeskulin spaltenden Stämme zeigten dagegen deutliche Wachstumshemmung wie auch alle übrigen Stretpokokken mit Ausnahme von 6 Stämmen, die gleichfalls starkes Wachstum zeigten.

Es erhebt sich nun die Frage, ob es sich bei den 15 Aeskulin spaltenden Stämmen um Enterokokken oder um andere Streptokokkenformen handelt, in der Hauptsache wohl um Milchsäurestreptokokken. K. Meyer[19]) hält schon die Aeskulinspaltung für ein charakteristisches Merkmal zur Erkennung der Enterokokken (siehe oben). Gundel[20]) dagegen fand auch bei Milchsäurestreptokokken häufig Aeskulinspaltung. Auch Lehmann bestreitet dies nicht, tritt aber trotzdem für eine scharfe Trennung beider Formen ein. Als ein wichtiges Merkmal erscheint auch ihm das verschiedenartige Wachstum in Gallebouillon, in der Milchsäurestreptokokken nur sehr zartes, Enterokokken dagegen außerordentlich starkes Wachstum zeigen sollen. Genügt dies schon für eine Abgrenzung, so handelt es sich bei den 13 Aeskulin spaltenden und in Gallebouillon auffallend stark wachsenden Keimen um Enterokokken, und die strittige Frage über das Vorkommen von Enterokokken in der Mundhöhle wäre schon in positivem Sinne beantwortet.

Unter den 15 Aeskulin spaltenden Stämmen befanden sich 4 für die weiße Maus pathogene bei intraperitonealer Injektion von 0,3 ccm 24 Stunden alter Bouillonkultur. Alle vier Mäuse kamen nach 24 Stunden ad exitum, ein hoher Prozentsatz in Anbetracht dessen, daß bei dem ganzen Material nur 5 Mäuse schon nach 24 Stunden eingingen.

Ob Beziehungen zwischen Fundort und der Pathogenität bestehen — alle vier pathogenen Stämme entstammten der Zungenschleimhaut — müßte an Hand einer größeren Versuchsreihe noch nachgeprüft werden.

Diese vier pathogenen Stämme wuchsen in Gallebouillon unter Bildung eines starken voluminösen Bodensatzes. Neun weitere nicht pathogene Stämme zeigten gleichfalls starkes Wachstum, die restlichen zwei ebenfalls nicht pathogenen Stämme zeigten nur ein äußerst zartes Wachstum in Gallebouillon (siehe Tabelle 1). Stämme, die pathogen und galleempfindlich waren, befanden sich nicht unter den Aeskulin spaltenden.

Da nach Ansicht Spaniers alle Enterokokken lackmusreduzierende Eigenschaften haben, wurden die Aeskulin spaltenden Stämme auch auf diese Fähigkeit hin in Lackmusmilch (Heim) geprüft. Außerdem wurden sie auf ihr Vermögen hin untersucht, Methylenblaumilch, Janusgrün und Ammoniummolybdat zu reduzieren (siehe Methodik). Es zeigte sich, daß sie in Methylenblaumilch und Ammoniummolybdat, wie auch alle übrigen untersuchten Stämme, reduzierende Eigenschaften besitzen. In den beiden anderen Nährsubstraten fand sich ein unterschiedliches Verhalten (siehe Tabelle 3). Unter den Aeskulin spaltenden Stämmen

befanden sich nur zwei Stämme, die Lackmus nicht reduzierten, während alle anderen hierzu imstande waren. Umgekehrt vermochten Janusgrün nur drei Stämme zu reduzieren (siehe Tabelle 2).

Faßt man alle Eigenschaften, die die verschiedenen Autoren von den Enterokokken verlangen, zusammen, so erfüllen 11 Stämme die Forderungen, die an Enterokokken gestellt werden, wenn man davon absieht, daß Gundel[21]) für die in der Mundhöhle vorkommenden Keime den Ausdruck Enterokokken überhaupt nicht angewendet wissen will. Von diesen sind 4 für die weiße Maus hochvirulent. Die 3 Stämme, die Janusgrün reduzieren, befinden sich unter diesen. Demnach scheint die Reduktion von Janusgrün keine für Enterokokken konstante Eigenschaft zu sein. Untersuchungen hierüber stehen noch aus.

Das Ergebnis der Untersuchungen weicht insofern von dem Gundels ab, daß dieser Autor keine für die weiße Maus pathogene Enterokokken aus der Mundhöhle nachweisen konnte. Allerdings berichtet er an einer Stelle[22]), daß pathogene Milchsäurestreptokokken gefunden wurden. Ob diese Aeskulin spalteten und in Gallebouillon starkes Wachstum zeigten, läßt sich aus der Arbeit leider nicht ersehen.

Unter Enterokokken werden im folgenden die Stämme verstanden, die Aeskulin spalten, galleunempfindlich sind und Lackmus bzw. Janusgrün reduzieren.

Was die Optochinempfindlichkeit der Enterokokken anbelangt, so sah ich bei 9 Stämmen nur äußerst zartes Wachstum in der Konzentration 1 : 5000, 2 Stämme zeigten in dieser Verdünnung gar kein Wachstum. Bei der Konzentration 1 : 50 000 setzte bei allen wieder starkes Wachstum ein.

Um festzustellen, ob die Enterkokken eine Reihe Zuckerarten anzugreifen vermögen, wurden sie in Nährlösungen nach Barsiekow gebracht (siehe Methodik). Es zeigte sich entgegen Gundels Beobachtungen, daß nur 1 Stamm (14) Raffinose und Laktose nicht angreift. Alle anderen Zucker wurden unter Säurebildung gespalten, die bei Mannit und Sorbit relativ schwach war. Gas wurde von keinem Stamm aus Dextrose gebildet.

Alle Enterokokken zeigten nach 24—48 Stunden keine Hämolyse, nach 10 Tagen trat dagegen bei 5 Stämmen (2, 11, 34, 46, 51) Hämolyse auf, die bei 2 von ihnen (11, 34) sehr stark war.

Bei ½ stündigem Erhitzen auf 60° C gingen alle Enterokokken zugrunde bis auf einen Stamm (51).

V.

Ueber das Vorkommen von Milchsäurestreptokokken in der Mundhöhle herrscht bei den verschiedenen Autoren noch keine einheitliche Auffassung. Unter Milchsäurestreptococcus ist der von Kruse als Streptococcus lacticus beschriebene Keim gemeint, Grotenfeldt nennt ihn Streptococcus lactici, Heim hält die Bezeichnung Streptococcus lactis für richtiger[23]). Nach Ansicht von Bitter und Löhr[24]) sind die in der normalen Mundhöhle, im Magen und oberen Dünndarm gesunder

Individuen nachweisbaren Diplostreptokokken hauptsächlich Milchsäurestreptokokken. Nach Injektion sehr hoher Dosen bei den üblichsten Versuchstieren nahmen diese keinerlei Schaden. Gleich Gundel sind sie der Ansicht, daß diese Keime menschenapathogen sind. Nach Gundel spricht die große Zahl der in jeder Mundhöhle vorkommenden Streptokokken, die fälschlicherweise als „Viridansstreptokokken" bezeichnet werden und mit den Milchsäurestreptokokken identisch sein sollen, wohl eher gegen als für ihre Pathogenität. Daß diese Keime mal bei lokalen Erkrankungen eine gewisse Rolle spielen können, sei nicht ausgeschlossen[25]). Auch er hält die Mundstreptokokken selbst bei intraperitonealer Einverleibung großer Mengen im allgemeinen für apathogen, hat aber gelegentlich gefunden, daß sie pathogen sein können[26]).

Lehmann[27]) bestreitet die Berechtigung zu der Annahme, daß die in der Mundhöhle vorkommenden Streptokokken vornehmlich Milchsäurestreptokokken seien und behauptet, daß die Mundschleimhaut eine große Reihe verschiedenartiger Keime aus der Gruppe der Streptokokken nebeneinander beherbergt.

Nach neueren Untersuchungen von Heim und Schlirf soll der Streptococcus lactis in der Mundhöhle nicht oft und in kariösen Zähnen überhaupt nicht gefunden worden sein[28]). Nach Heim ist das bis jetzt geeignetste Mittel zur Erkennung des Streptococcus lactis die Ueberimpfung in Milch, die mit 7% Lackmustinktur versetzt ist. Daß der Streptococcus lactis Lackmusmilch in sehr kurzer Zeit reduziert, haben schon Esten und Hasting (1909) hervorgehoben[29]). Heim verdanken wir eine genaue Beschreibung seines Verhaltens in Lackmusmilch. Nach ihm wird nach 7—17 stündiger Bebrütung bei 37° C. die Milch durch die von den Keimen gebildete Reduktase elfenbeinweiß. Unter gleichzeitiger Gerinnung tritt dann im oberen Teil Rötung auf, die im Laufe der nächsten Tage nach unten fortschreitet, bis die ganze Milch rosarot geworden ist[30]). Maßgebend für die Erkennung des Streptococcus lactis ist also, daß die blaugefärbte Milch zuerst weiß und dann rot wird. Streptokokken anderer Herkunft sollen sich anders verhalten. Heim beobachtete Stämme, bei denen die Lackmusmilch erst rot, dann teilweise weiß, oder nie weiß, sondern nur bald stärker bald schwächer rot wurde und mehr oder weniger koagulierte. Andere Arten wieder ließen sie ganz unverändert oder gaben ihr höchstens einen Stich ins Bläuliche. Die beiden letzten Streptokokkenformen entstammten zum Teil vom Zungenbelag und aus Zahnkaries[31]).

Nach Demeter[32]) ist die typische Lackmusmilchprobe durch drei Phasen charakterisiert.

1. Reduktion des blauen Farbstoffes zur Leukobase.
2. Gerinnung der Milch.
3. Reoxydation der Leukobase zum roten Farbstoff.

Nach Klimmer und Haupt[33]) kann man auch zum Nachweis der Reduktionswirkung der Milchsäurestreptokokken Methylenblaumilch und Janusgrün oder Ammoniummolybdat als Indikator in Traubenzuckerbouillon benutzen.

Wie Heim weist auch Lehmann darauf hin, daß die Milchsäurestreptokokken in der Intensität der Säurebildung große Unterschiede zeigen[31]). Es sollen Stämme vorkommen, die die Lackmusmilch reduzieren, aber nicht zur Gerinnung bringen.

Auch nach Ansicht Gundels ist die Säuerung bei den Milchstreptokokken, wie er sie nennt, oft nur sehr gering.

Dgegen spricht Spanier[33]) den Streptokokken das Reduktionsvermögen von Lackmus ausnahmslos ab. Zur Untersuchung gelangten bei Spanier zum größten Teil aus Rachen und Sputum gezüchtete „Viridans"-Stämme, ein Ausdruck, den Gundel für die „grün wachsenden" Streptokokken der Mundhöhle ablehnt, denn diese und nicht die Erreger der Endokarditis lenta sind anscheinend von Spanier gemeint, wie aus den seiner Arbeit beigefügten Tabellen zu ersehen ist.

VII.

Nach eigenen Beobachtungen (siehe Tabelle 3) zeigten 9 Stämme in Lackmusmilch das typische Verhalten von Milchsäurestreptokokken nach Heim. Vier von diesen Stämmen sind Enterokkokken, das heißt sie spalten Aeskulin, sind galleunempfindlich und reduzieren Lackmus bzw. Janusgrün. Es bleiben also 5 Stämme, die die Lackmusmilch in 24 Stunden vollständig, das heißt bis auf einen schmalen rosa Ring im oberen Teil der Milch, der im Laufe der folgenden Tage nach unten fortschritt, reduziert hatten. Von diesen 5 Stämmen spaltet keiner Aeskulin, 1 Stamm (13) wächst stark in Gallebouillon, 2 Stämme (7 und 13) sind pathogen für die weiße Maus.

21 Stämme holten dieses Verhalten in Lackmusmilch in etwa acht Tagen ein, 7 Stämme wurden überhaupt nur zum Teil schneller, zum Teil langsamer, jedoch unvollständig reduziert, und 20 Stämme gar nicht. Diese Stämme stellen demnach keine echten Milchsäurestreptokokken nach Heim dar.

Da nach Klimmer und Haupt, wie oben erwähnt, Methylenblaumilch, Janusgrün und Ammoniummolybdat in gleicher Weise wie Lackmusmilch zum Nachweis der Milchsäurestreptokokken herangezogen werden können, wurden die Keime auch in diese Nährböden geimpft. Da Methylenblaumilch von allen Stämmen mehr oder weniger schnell reduziert und zur Koagulation gebracht, Ammoniummolybdat von allen Stämmen innerhalb von 24 Stunden reduziert wurde, fielen diese Nährmedien für eine Erkennung der Milchsäurestreptokokken von vornherein aus. Unter den fünf Stämmen, die nach Heim Lackmusmilch in der für Milchsäuresteptokokken typischen Art angriffen, befanden sich nur 2, die Janusgrün reduzierten (siehe Tabelle 3). Ob nach diesem Ergebnis dieser Farbstoff ein ebenso sicheres Kriterium für die Diagnose der Milchsäurestreptokokken wie die Lackmusmilch ist, müßte noch einmal eingehend untersucht werden.

Von den 5 Milchsäurestreptokokken (nicht eingerechnet die 4 oben erwähnten Enterokokken, die auch die Kriterien der Milchsäurestreptokokken erfüllten) waren 2 Stämme (7, 13) pathogen für die weiße Maus nach intra-

peritonealer Injektion von 0,3 ccm 24 stündiger Bouillonkultur. Der Tod der Tiere trat nach 48 Stunden ein. Nur 1 dieser 5 Stämme (13) zeigte starkes Wachstum in Gallebouillon.

VIII.

Wie aus dem Schrifttum zu ersehen ist, sind auch die Ansichten über das Vorkommen von Pneumokokken in der Mund- und Rachenhöhle noch sehr geteilt. Kruse hält schon in seiner ersten Veröffentlichung den Streptococcus lactis gleich dem Streptococcus lanceolatus für einen häufigen Gast auf allen Schleimhäuten. Ihm folgen W. E. Hilgers, H. Sperling und A. Seitz[36]). Auch nach Neufeld[37]) sind die Pneumokokken normale Bewohner jedes Rachens. Went[38]) hält die meisten Lanzettkokken der Mundhöhle für Saprophyten. Gundel[39]) fand in einer Serie von 37 Halsabstrichen keinen Pneumococcus, sondern nur echte Milchsäurestreptokokken und betont, daß diese Befunde im Gegensatz zu der allgemeinen Ansicht der Kliniker stehen. An anderer Stelle[40]) berichtet er, daß er in Hals- und Mundabstrichen von Gesunden (95) und Kranken (22) nur in 12 Fällen Pneumokokken gefunden hat.

Zur Diagnose der Pneumokokken wird unter anderem ihre Gallelöslichkeit, Optochinempfindlichkeit und die Inulinvergärung herangezogen. Nach Morgenroth und Levy[41]) soll Optochin die Eigenschaft haben, Pneumokokken schon in sehr hoher Verdünnung im Wachstum zu hemmen. Auch Streptokokken sollen bei höherer Konzentration (1 : 10 000 bis 1 : 3000) nach Schiemann und Ishiwara[42]) in ihrem Wachstum gehemmt werden, während die Wachstumshemmung für Pneumokokken schon in einer Verdünnung von 1 : 600 000 bis 1 : 300 000 eintreten soll.

Die Inulinprobe soll dem Galle- und Optochinversuch nachstehen, da auch grünwachsende Streptokokken Inulin zersetzen können[43]).

IX.

Nach eigenen Untersuchungen trat bei keinem der 57 Stämme eine Wachstumshemmung in den Konzentrationen von 1 : 500 000 bis 1 : 1 000 000 auf. In der Verdünnung 1 : 5000 zeigen 10 Stämme (12, 13, 14, 15, 16, 21, 30, 32, 52, 57) kein Wachstum, Stamm 17 starkes Wachstum, und alle übrigen starke Wachstumshemmung. Mit Ausnahme von 4 Stämmen trat aber bei allen von der Verdünnung 1 : 50 000 an wieder starkes Wachstum auf. Nach diesem Ergebnis dürften sich keine Pneumokokken unter den von uns aus der Mundhöhle gezüchteten Stämmen befinden. Dieser Befund wird noch dadurch gesichert, daß bei der Galleprobe bei keinem Stamm Abtötung erfolgte (siehe Methodik).

Daß auch Streptokokken, die nicht zu der Gruppe der Pneumokokken gehören, Inulin vergären können, bestätigen meine eigenen Versuche. Nur 18 Stämme ließen den Inulinnährboden unverändert, durch alle anderen wurde nach 24 stündiger Bebrütung bei 37° C. ein mehr oder weniger starker Farbumschlag in rosa hervorgerufen. Dieses Resultat bestätigt die

Ansicht, daß der Inulinreaktion wohl keine allzu große Bedeutung für die Pneumokokkendiagnose beigemessen werden kann.

X.

Unter den nicht in die Reihe der typischen Enterokokken und Milchsäurestreptokokken eingeordneten Stämme (41) befanden sich noch 5 für die weiße Maus pathogene. Stamm 48 tötete die Maus nach 24 Stunden, Stamm 6 und 17 nach 48 Stunden und Stamm 30 und 40 erst nach 3 Tagen.

Acht Stämme zeigten in Gallebouillon starkes Wachstum (4, 5, 27, 30, 37, 40, 42, 52). 2 von diesen (4, 52) spalteten Aeskulin, waren aber auf Grund ihres Unvermögens Lackmus zu reduzieren nicht zu den Enterokokken gerechnet worden.

Von den untersuchten Zuckerarten wurde Raffinose in 9 Fällen überhaupt nicht gespalten (14*, 33, 35, 36, 38, 40, 44, 49, 50).

Mannit wurde in 6 Fällen (22, 33, 35, 41, 44, 54), Sorbit in 3 Fällen (22, 41, 44) und Laktose in 1 Fall (14) nicht angegriffen.

Alle anderen Zuckernährmedien (siehe Methodik) wurden mehr oder weniger stark gerötet, Mannit und Sorbit haltige relativ am schwächsten.

Gasbildung aus Dextrose fand, wie schon erwähnt, in keinem Fall statt.

Was die Morphologie der in der Mundhöhle gefundenen Streptokokken betrifft, so verweise ich auf zusammenfassende Literaturdarstellungen [44]), wo der ausgeprägte Pleomorphismus bereits hervorgehoben wird. Eine Trennung auf Grund ihres morphologischen Verhaltens halte ich deshalb nicht für angängig. Vom Fundort auf das morphologische Aussehen zu schließen, ist nach meinen Beobachtungen nicht mit völliger Sicherheit möglich. Sehr lange Ketten wurden meist vom Zahnbelag oder aus der unmittelbaren Umgebung der Zähne gezüchtet, während sich kurze Ketten und Diplokokken häufig von der Zungenschleimhaut, von der Tonsille und aus Zahnkaries züchten ließen. Die Beschreibung, die Kurth [45]) zuerst vom Streptococcus conglomeratus gab, trifft bei einigen von mir gezüchteten Stämmen zu. Diese Streptokokkenart bildet dichte verfilzte Knäuel, in denen längere Ketten wegen der dichten Lagerung sehr schwer und meist nur am Rande sichtbar sind. Auch der Streptococcus longissimus von Spengler [46]) 1901 zuerst beschrieben, wurde in einigen Fällen beobachtet. Dieser bildet sehr lange telegraphendrahtähnlich nebeneinander liegende Riesenketten, die sich über das ganze Gesichtsfeld hinziehen. Meine eigenen Befunde decken sich mit denen Lehmanns, der diesen Keim nur gelegentlich in der Mundhöhle nachweisen konnte, entgegen der Ansicht Thalmanns über das häufige Vorkommen auf den Tonsillen [47]). Zum Schluß sei noch einiges über die Kolonieform und die Hämolyse auf Blutagar bei den untersuchten Stämmen gesagt.

Von geringen Uebergängen abgesehen, konnten drei Kolonieformen makroskopisch oder mit der Lupe beobachtet werden nach 1—2 tägigem

*) Enterococcus.

Wachstum. Die eine zeichnet sich aus durch eine matte, r a u h e, wenig erhabene Oberfläche und einen stark gezähnten Rand. Die Farbe der Kolonie, ist weißlich-gelb. Das Zentrum der Kolonie, in der Farbe unverändert, ragt nicht über die Oberfläche hinaus. Die Kolonie ist leicht abhebbar. Zuweilen zeigt sich bei durchfallendem Licht ein schmaler heller Hof. Die Größe variiert mit dem Alter. Sie kann punktförmig sein und eine Größe von 1 mm und darüber erreichen. Während diese erste beobachtete Einzelkolonie nicht immer rund zu sein braucht, erscheint die zweite Kolonieform kreisrund, erhaben, mit g l a t t e r, glänzender Oberfläche und mit meist nicht gezacktem Rand. Die Farbe ist weißlich-gelb, beim Zusammenfuß nehmen die Kolonien eine mehr gelblich - grünliche Tönung an. Das Zentrum ist meist etwas heller gefärbt; die Kolonie fällt nach dem Rande zu eine Spur ab. Bei durchscheinendem Lichte ist auch hier ein schmaler, heller Hof wahrnehmbar. Die Kolonie ist leicht abhebbar. Die dritte Form unterschiedet sich von der zweiten n u r d u r c h d i e F a r b e, die hier weißlich-grau oft mit einem Stich ins Bläuliche ist. Beim Zusammenfluß der Kolonien im Impfstrich ist die Farbe sogar mehr schiefergrau bis schwärzlich. Bei durchfallendem Licht ist selten ein heller Hof wahrzunehmen, der Rand der Kolonie erscheint bei auffallendem Licht etwas dunkler als die Kolonie und ihre Umgebung. Die zweite Form kam am häufigsten zur Beobachtung, die erste nur einige Male. Die Kolonien der Enterokokken, von einigen Uebergängen abgesehen, zeigten Farbe und Form, der unter 3 beschriebenen Art. Erinnert sei hier an die R- und S-Formen, wie sie von zahlreichen Autoren bei den verschiedenen Bakterienarten beschrieben wurden.

H ä m o l y s e trat bei keinem Stamm nach 24—48 Stunden auf. Nach etwa 10 Tagen jedoch zeigten 11 Stämme einen starken hämolytischen Hof. Weitere 16 Stämme zeigten schwächere Hämolyse, der Rest gar keine. Unter den Stämmen die hämolytisch wurden befanden sich 5 Enterokokken und 2 Milchsäurestreptokokken.) Von Streptokokken, bei denen der Eintritt der Hämolyse sehr langsam erfolgte, berichtet schon H a m m 1910 [48]). Diese Form nannte er Streptococcus hämolyticus lentus. L e h m a n n züchtete solche als Streptococcus hämolyticus lentus identifizierten Stämme in der Hamburger Klinik aus Urin, Rachen, Zahnalveolen, kariösen Zähnen und Sputum.

Auf eine Erscheinung sei dann noch kurz hingewiesen. Bei Verwendung von K o c h b l u t a g a r wuchsen alle Keime mit auffallend grün-gelber Farbe und waren von einer breiten grün-gelben Zone auf dem schokoladenbraun gefärbten Agar umgeben. In der Umgebung des Impfstrichs trat diese Erscheinung besonders deutlich zutage.

XI.

Wenn man als Kriterium für die Diagnose der Enterokokken ihr Aeskulinspaltungsvermögen, ihre Fähigkeit Lackmus zu reduzieren, ihr typisches Verhalten in Gallebouillon und auf Blutagar (schiefergraue Farbe der Kolo-

nien) nimmt, für die Erkennung der Milchsäurestreptokokken die Definition von Heim, so ist es gelungen, beide Arten in der Mundhöhle nachzuweisen. Enterokokken ließen sich in faßt 20% (11 unter 57) der Fälle, darunter einige hochvirulente, nachweisen, Milchsäurestreptokokken in 15% der Fälle (9 unter 57).

Bemerkenswert ist, daß sich unter den Enterokokken solche Stämme befanden, die Lackmusmilch in der nach Heim für Milchsäurestreptokokken typischen Weise veränderten. Dieser Befund würde dafür sprechen, daß die Enterokokken möglicherweise als eine Untergruppe der Milchsäurestreptokokken aufzufassen sind, was mit der Ansicht Gundels konform gehen würde.

Andererseits fanden sich auch Milchsäurestreptokokken, die kein Aeskulin spalteten und mithin sicher keine Enterokokken waren.

Schließlich wurden nach der bereits erwähnten Definition Enterokokken festgestellt, die nicht ohne weiteres zu den Milchsäurestreptokokken gerechnet werden können, da sie nur langsam oder überhaupt nur unvollständig Lackmus reduzierten.

Beiläufig sei noch bemerkt, daß der Ansicht Lehmanns, Milchsäurestreptokokken zeigten äußerst zartes Wachstum in Gallebouillon, nicht ganz beigepflichtet werden kann, da sich unter den Milchsäurestreptokokken ein Stamm befand, der in Gallebouillon starkes Wachstum zeigte. Demnach wäre das Wachstum in Gallebouillon kein absolut charakteristisches Merkmal für Enterokokken.

Erwähnt sei noch, daß sich die tierpathogenen Stämme unregelmäßig auf die verschiedenen Gruppen verteilten.

Entgegen Gundels Beobachtungen ist es uns gelungen, Enterokokken (11 von 57 Streptokokkenstämmen) insbesondere pathogene Enterokokken (4), in der Mundhöhle nachzuweisen.

Zusammenfassung:

1. Unter 57 aus der Mundhöhle gezüchteten Streptokokkenstämmen befanden sich 15 Aeskulin spaltende. Elf von diesen waren Enterokokken, d. h. sie waren außerdem galleunempfindlich und reduzierten Lackmus bzw. Janusgrün, 9 Milchsäurestreptokokken (darunter 4 Enterokokken) nach der Definition von Heim und kein einziger ein Pneumococcus.

   Die 4 restlichen Aeskulin spaltenden Stämme wurden auf Grund ihres kulturellen Verhaltens weder zu den Enterokokken noch zu den Milchsäurestreptokokken gerechnet.

2. Vier von diesen 11 Enterokokken waren pathogen für die weiße Maus (Tod nach 24 Stunden bei intraperitonealer Injektion von 0,3 ccm 24 Stunden alter Bouillonkultur).
   Von den Milchsäurestreptokokken töteten 2 Stämme (7, 13) die Maus

nach 48 Stunden (die 2 Enterokokken [12, 18] die pathogen sind und sich auch wie typische Milchsäurestreptokokken verhalten sind hier nicht eingerechnet). Da vom ganzen Material 11 Stämme pathogen waren, bleiben noch 5. Von diesen tötete ein Stamm die Maus nach 24 Stunden, 2 nach 48 Stunden und 2 nach 72 Stunden.

3. Methylenblaumilch und Ammoniummolybdat wurde von allen 57 Stämmen reduziert, Janusgrün (s. Tabelle II und III) nur von 12 (darunter 3 Enterokokken und 2 Milchsäurestreptokokken), Lackmusmilch von 37 Stämmen (unter diesen befinden sich die Milchsäurestreptokokken und die Enterokokken).

4. Bei der Verdünnung 1 : 5000 waren unter 57 Stämmen 56 Optochin empfindlich (aber keine Abtötung). 11 von diesen (darunter 2 Enterokokken [12, 14] und 1 Milchsäurestreptococcus [13]) zeigten gar kein, der Rest (darunter 9 Enterokokken [s. Tab. 4] und 4 Milchsäurestreptokokken [7, 23, 24, 56]) schwaches Wachstum. Die 2 Milchsäurestreptokokken (11, 18), die auch die Bedingungen erfüllen, die an Enterokokken gestellt wurden, sind hier nicht zu den 4 Milchsäurestreptokokken, sondern zu den 9 Enterokokken gezählt. Von der Verdünnung 1 : 50 000 an trat bei allen mit Ausnahme von 5 Stämmen (darunter kein Enterococcus und kein Milchsäurestreptococcus) wieder starkes Wachstum auf.

5. 19 Stämme (darunter 11 Enterokokken und 1 Milchsäurestreptococcus) zeigten starkes Wachstum in Gallebouillon. Auch hier sind die Enterokokken, die sich wie typische Milchsäurestreptokokken verhalten, zu den Enterokokken und nicht zu den Milchsäurestreptokokken mit eingerechnet.

6. Von den untersuchten Zuckerarten wurde Raffinose in 8, Mannit in 6, Sorbit in 3 Fällen und Laktose einmal nicht angegriffen. Während die Milchsäurestreptokokken a l l e verwendeten Zucker unter Säurebildung spalteten, befand sich unter den Enterokokken 1 Stamm, der Raffinose und Laktose n i c h t angriff.

7. Gas aus Dextrose wurde von keinem der 57 Stämme gebildet.

8. Hämolyse trat bei keinem Stamm nach 24 bis 48 Stunden auf. Nach etwa 10 Tagen zeigten 11 Stämme (darunter 2 Enterokokken [34, 11] und 1 Milchsäurestreptococcus [7]) einen starken, 16 Stämme (darunter 2 Enterokokken [46, 51] und 1 Milchsäurestreptococcus [13] einen schwächeren hämolytischen Hof. Stamm 11, der sich wie ein typischer Milchsäurestreptococcus verhält, ist mit zu den Enterokokken gerechnet.

9. Bis auf 2 (51 [Enterococcus] und Stamm 44) gingen alle untersuchten Stämme bei ½ stündigem Erhitzen bei 60° C. zugrunde.

Herrn Privatdozent Dr. E h r i s m a n n sage ich an dieser Stellle für die Ueberlassung des Themas und die wertvollen Anregungen bei Abfassung der Arbeit meinen ergebensten Dank.

Schriftennachweis:

[1]) Meyer, K.: Klin. Wschr. 1924, S. 2291.
[2]) Meyer, K. und Schönfeld, H.: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 99, 1926, S. 402.

[3]) Went, St.: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 100, S. 62.
[4]) Spanier, Fritz: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 105, S. 1.
[5]) Lehmann, W.: Erg. d. Hyg., Bd. XI.
[6]) Gundel, M.: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 109, 7/8, 1928; Bd. 99, 1926.
[7]) Lehmann, W.: Erg. d. Hyg., Bd. XI.
[8]) Rosenberg: Inaugural-Dissertation, Hamburg 1927.
[9]) Kahlfeld, F. und Wahlich, A.: Bakt. Nährbodentechnik. Berlin 1929.
[10]) Dold, H. und Jochimsen, E.: Z. Hyg., Bd. 110, S. 36.
[11]) Zitiert bei Ehrismann, O.: Bakteriologische Differentialdiagnose, S. 285. Verlag Urban & Schwarzenberg. Berlin und Wien.

[12]) Siehe bei Ehrismann, O.: Differentialdiagnose, S. 193.
[13]) Siehe bei Ehrismann, O.: Differentialiagnose, S. 194.
[14]) Meyer, K.: Zbl. Bakter. 1928, Abt. I, Orig.-Bd. 109, S. 350.
[15]) Siehe bei Ehrismann, O.: Bakt. Differentialdiagnose, S. 169.
[16]) Siehe Ehrismann, O.: Bakt. Differentialdiagnose, S. 169.
[17]) Heim, L.: Z. Hyg. 1924, Bd. 101, S. 109.
[18]) Klimmer, M. und Haupt, H.: Zbl. Bakt. 1927, Abt. I, Orig.-Bd. 101, S. 126.

[19]) Meyer, K.: Klin. Wschr. 1924, S. 2291.
[20]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1930, Abt. I, Orig.-Bd. 115, S. 44.
[21]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1928, Abt. I, Orig.-Bd. 109, 7/8.
[22]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1930, Abt. I, Orig.-Bd. 115, S. 44.
[23]) Zitiert bei Lehmann, W.: Erg. d. Hyg., Bd. XI.
[24]) Bitter und Löhr, W.: Arch. klin. Chir. 1926, Bd. 64, S. 139.
[25]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1930, Abt. I, Orig.-Bd. 115, S. 44.
[26]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1930, Abt. I, Orig.-Bd. 115, S. 44.
[27]) Zitiert bei Lehmann, W.: Erg. d. Hyg., Bd. XI.
[28]) Zitiert bei Gins, H. A.: Einführung in die Bakteriologie, S. 123. Verlag J. F. Lehmann (München).

[29]) Esten und Hasting: Zbl. Bakter. 1927, Abt. I, Orig.-Bd. 101, S. 126.
[30]) Heim, L.: Z. Hyg. 1924, Bd. 101, S. 109.
[31]) Heim, L.: Z. Hyg. 1924, Bd. 101, S. 109.
[32]) Demeter, K. J.: Milchwirtsch. Forschg. 5, 1928, S. 505.
[33]) Klimmer, M. und Haupt, H.: Zbl. Bakter. 1927, Abt. I, Orig.-Bd. 101, S. 126.

[34]) Lehmann, W.: Erg. d. Hyg., Bd. XI.
[35]) Spanier, F.: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 105, S. 1.
[36]) Zitiert bei Heim, L.: Z. Hyg. 1924, Bd. 101, S. 104.
[37]) Neufeld: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 93, S. 1—4.
[38]) Went: Zbl. Bakter. 1926, Abt. I, Orig.-Bd. 100.
[39]) Gundel, M.: Zbl. Bakter., Abt. I, Orig.-Bd. 95, 2/4.
[40]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1928, Abt. I, Orig.-Bd. 109, 7/8.
[41]) Morgenroth, J. und Levy, R.: Klin. Wschr. 1911, Bd. 34, S. 1560; 1911, Bd. 44, S. 1979.

[42]) Schiemann, O. und Ishiwara, T.: Z. Hyg. 1914, Bd. 77, S. 49.
[43]) Zitiert bei Ehrismann, O.: Bakteriologische Differentialdiagnose, S. 000. Verlag von Uban & Schwarzenberg (Berlin und Wien).
[44]) Lehmann, W.: Erg. d. Hyg., Bd. XI.
[46]) Gundel, M.: Zbl. Bakter. 1930, Abt. I, Orig.-Bd. 115, S. 44.
[46]) Kurth, H.: Arb. ksl. Ges.amt. 7.
[47]) Zitiert bei Lehmann, s. 1.
[48]) Siehe 1.
[49]) Zitiert bei Lehmann: Erg. d. Hyg., Bd. XI.

Lebenslauf

Ich, Fritz Wiechert, wurde am 15. November 1908 in Spandau geboren. Von meinem 6. bis zum 20. Lebensjahr besuchte ich die Stein-Hardenberg Oberrealschule in Spandau. Nach bestandener Reifeprüfung widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde auf der Universität in Berlin, das ich im Mai 1933 mit meiner Approbation als Zahnnarzt beendete. Anschließend war ich als Assistent tätig. Im Oktober 1933 ließ ich mich in meiner Heimatstadt als Zahnarzt nieder.